

Bouillon de FRASER

DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon de Fraser est utilisé pour l'enrichissement sélectif et différentiel (bouillon d'enrichissement secondaire) de *Listeria monocytogenes* dans le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires.

HISTORIQUE

Le milieu, étudié par Fraser *et al.* en 1988, représente une modification de la formulation de Donnelly et Baigent. La composition de base, identique à celle du bouillon UVM, a été modifiée par adjonction de chlorure de lithium comme agent sélectif et de citrate ferrique ammoniacal afin de visualiser les cultures hydrolysant l'esculine par l'apparition d'un noircissement dans le milieu.

PRINCIPES

- La seule différence de concentration en acide nalidixique et en acriflavine des bouillons de Fraser-demi et de Fraser ainsi que les deux étapes d'enrichissement, permettent une récupération très satisfaisante de *Listeria monocytogenes.* Le bouillon de Fraser permet d'effectuer l'étape d'enrichissement secondaire.
- La polypeptone, l'extrait de levure et l'extrait de viande apportent les éléments nutritifs nécessaires à la croissance des *Listeria*.
- La forte teneur en chlorure de sodium permet d'accroître la sélectivité du milieu.
- Les phosphates agissent comme substances tampons pour le maintien du pH.
- L'esculine est hydrolysée par les *Listeria* en glucose et en esculétine. Ce dernier composé forme un complexe noir en présence des ions ferriques qui, apportés extemporanément par le citrate de fer, favorisent également la croissance des *Listeria.*
- Le chlorure de lithium inhibe la plupart des entérocoques susceptibles d'hydrolyser l'esculine.
- L'acide nalidixique bloque la réplication de l'ADN des germes sensibles à cet agent antibactérien.
- L'acriflavine supprime la croissance de la microflore secondaire à Gram positif.

PREPARATION

- Mettre en solution 55,0 g de milieu de base déshydraté (BK115) ou de milieu de base déshydraté du bouillon de Fraser (base II) (BK133) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes, à raison de 10 mL par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

MODE D'EMPLOI

- Refroidir jusqu'à 25°C.
- Dans chaque tube de bouillon Fraser[(1)] de base (BK115), ajouter aseptiquement 0,1 mL d'une solution stérile de citrate ferrique ammoniacal à 5% BS059 ou BS062
- Dans les tubes ainsi préparés, ou les tubes de bouillon prêt-à-l'emploi (BM013), transférer 0,1 mL de culture obtenue préalablement sur un bouillon d'enrichissement primaire (bouillon de Fraser-demi).
- Homogénéiser parfaitement.
- Incuber pendant 24 et 48 heures à 37°C.

[(1)] NOTA :

Dans le cas où le bouillon de Fraser (base II) (BK133) est utilisé, ajouter stérilement 0,1 mL de supplément sélectif reconstitué BS031 à chaque tube de milieu de base.

LECTURE / INTERPRETATION

Le noircissement des cultures indique la présomption de présence pour les *Listeria*. Certaines souches de microorganismes hydrolysant l'esculine (entérocoques) peuvent entraîner le noircissement du milieu.
A partir de toutes les cultures positives (avec ou sans noircissement), effectuer un isolement, au moyen d'une anse bouclée, sur un (ou des) milieu(x) sélectif(s) : gélose Oxford (BK110 + BS003 ou BM019), gélose PALCAM (BK145 + BS004/BS049 ou BM020), **COMPASS® *Listeria* Agar** (BM123 ou BM124).
Repérer les colonies suspectes et les soumettre aux tests biochimiques d'identification.

NOTA :

Une durée minimale de 24 heures est nécessaire pour permettre la visualisation de la coloration noire.

FORMULE-TYPE du milieu complet
(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Polypeptone..10,00 g
- Extrait autolytique de levure ....5,00 g
- Extrait de viande ....5,00 g
- Chlorure de sodium ....20,00 g
- Phosphate disodique anhydre ....9,60 g
- Phosphate monopotassique ....1,35 g
- Esculine ....1,00 g
- Chlorure de lithium..3,00 g
- Acide nalidixique...20 mg
- Acriflavine (chlorhydrate) ....25 mg
- Citrate de fer III ammoniacal..0,50 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

CONTRÔLE QUALITE

- Milieux déshydratés : poudre jaunâtre, fluide et homogène.
- Milieux préparés (complets) : solution ambre jaune à reflet bleuté.
- Réponse culturale typique après 48 heures d'incubation à 37°C, puis subculture sur gélose Oxford :

Microorganismes		Croissance sur gélose Oxford
Listeria monocytogenes + *Enterococcus faecalis* + *Escherichia coli*	CIP 59.53 ATCC® 29212 ATCC 25922	≥ 10 colonies caractéristiques
Listeria monocytogenes + *Enterococcus faecalis* + *Escherichia coli*	CIP 78.31 ATCC 29212 ATCC 8739	≥ 10 colonies caractéristiques
Enterococcus faecalis *Escherichia coli*	ATCC 29212 ATCC 25922	inhibée inhibée

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieux de base déshydratés (BK115, BK133) : 2-30°C, à l'abri de la lumière.
Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

- Milieu de base préparé à partir de la référence BK115 : 15 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).
- Milieu complet préparé en tubes à partir de la référénce BK115 : 8 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).
- Milieu de base préparé à partir de la référence BK133 : 6 mois à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).
- Milieu complet préparé en tubes à partir de la référence BK133 : 8 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).

Supplément sélectif pour bouillon de Fraser (pour BK133),
Solution stérile de citrate ferrique ammoniacal à 5% :

- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu prêt-à-l'emploi en tubes :

- Stocker entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

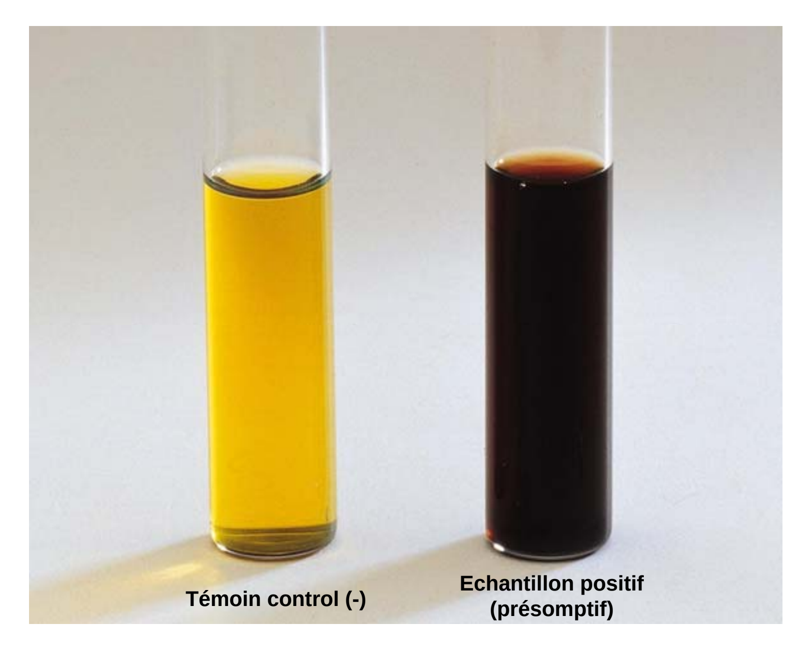
PRESENTATION

	Code
Milieu prêt-à-l'emploi en tubes :	
- Coffret de 50 tubes de 10 mL	BM01308
Milieu déshydraté FRASER base (sans citrate de fer III ammoniacal) :	
- Flacon de 500 g	BK115HA
Solution stérile de citrate ferrique ammoniacal à 5% :	
- Coffret de 10 flacons de 90 mL	BS05908
- Sachet de 7 tubes de 10 mL	BS06208
Milieu déshydraté de FRASER base II (sans citrate de fer III ammoniacal, ni acide nalidixique, ni acriflavine) :	
- Flacon de 500 g	BK133HA
- Fût de 5 kg	BK133GC
Supplément sélectif pour bouillon de FRASER (pour BK133) :	
- Coffret de 10 flacons qsp 500 mL	BS03108

SUPPORT PHOTO

Référence produit : [BK115HA + BS05908 ou BS06208] ; [BK133HA, GC + BS03108 + BS05908 ou BS06208] ou BM01308

Utilisation : Enrichissement sélectif et différentiel de *Listeria monocytogenes* dans les aliments.



Listeria monocytogenes

Bouillon de FRASER
Réf : **BM01308**
Incubation : 24 heures / 37°C
Caractéristiques : Le noircissement des tubes (**à droite**) indique de façon présomptive la présence de *Listeria monocytogenes* (réduction de l'esculine) ; cependant une confirmation reste toujours obligatoire.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

DONNELLY, C.W., and BAIGENT, G.J.. 1986. Method for flow cytometric detection of *Listeria monocytogenes* in milk. Applied and Environmental Microbiology, **52** : 689-695.

FRASER, J.A., and SPERBER, W.H.. 1988. Rapid detection of *Listeria* spp. in food and environmental samples by esculin hydrolysis. Journal of Food Protection, **51** : 762-765.

NF EN ISO 11290-1 (V 08-028-1). Février 1997. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes.* Partie 1 : Méthode de recherche.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 11290-1/A1 (V 08-028-1/A1). Février 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes.* Partie 1 : Méthode de recherche. Amendement 1 : Modification des milieux d'isolement, de la recherche de l'hémolyse et introduction de données de fidélité.

Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2009-02-10.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BK115/F/2003-04 : 11.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr